Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.4, Winter 2021, P. 645-662
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۹، ص. ۶۶۲-۶۴۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله علمی-پژوهشی

نشانگرهای مورفولوژیکی ابزاری برای بررسی تنوع ژنتیکی برخی ژنوتیپ‌های لایم (*Citrus* **aurantifolia**)

شاهین جهانگیرزاده خیاوی[1*]- بهروز گلعین[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۱۲

چکیده

مطالعه تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم‌های هر گیاهی باعث بهبود برنامه‌ریزی‌های اصلاحی می‌شود. مرکبات نیز به دلیل آنکه یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی است از این قاعده مستثنا نیستند. بسیاری از لیموهای مناطق جنوبی بر اساس شکل ظاهری و حدس نام‌گذاری شده‌اند که می‌توان با کاربرد نشانگرهای ریختی و مقایسه آنها با ارقام و گونه‌های شناخته‌شده روابط ژنتیکی و شجره‌نامه آنها را مشخص نمود. بررسی حاضر جهت مطالعه تنوع و روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های لیمو توسط نشانگرهای مورفولوژیکی صورت گرفت. چهل و یک صفت کمی و کیفی در ۲۳ ژنوتیپ مختلف لیمو از سه منطقه جغرافیایی و هفت رقم شناخته‌شده مرکبات به‌عنوان شاهد بر اساس توصیف نامه معرفی‌شده برای مرکبات بررسی شد. تجزیه خوشه‌ای توسط نرم‌افزار Ntsys و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی توسط نرم‌افزار Past انجام شد. بر اساس ماتریس تشابه محاسبه‌شده دامنه تشابه مابین ژنوتیپ‌ها از ۰/۱۴۱ الی ۰/۶۸۳ با متوسط ۰/۳۸۸ بود که دلالت بر وجود تنوع بالا بین ژنوتیپ‌های موردبررسی دارد. بر اساس نمودار خوشه‌ای حاصل ژنوتیپ‌ها در سطح تشابه ۰/۳۲ در چهار گروه قرار گرفتند. در تجزیه کلاستر سلطان مرکبات (*Citrus grandis*) و بالنگ (*C. medica*) به همراه پرتقال (*C. sinensis*) به‌عنوان یکی از اجداد اولیه مرکبات از سایر نمونه‌ها گروه مجزایی تشکیل دادند. گروه چهارم که بزرگ‌ترین گروه تشکیل‌شده بود تمام رقم‌های لیمو شاهد را در بر داشت که نشان از ارتباط آنها با یکدیگر بود. بر اساس آزمون تجزیه به مؤلفه‌های اصلی مشخص گردید که ده مؤلفه اول ۸۰/۵۲ در صد از تغییرات را در برگرفتند. بر اساس آزمون تجزیه به مؤلفه‌های اصلی مشخص می‌گردد تا مؤلفه دهم ۲۶ صفت از ۴۱ صفت مورد بررسی نقش معنی‌داری در ایجاد تفاوت‌ها دارند. به‌طورکلی با توجه به مجموع نتایج مشخص شد ویژگی‌های مورفولوژیکی می‌توانند بین لیموها و دیگر نمونه‌های مرکبات تفاوت قائل شده و آنها را تشخیص دهند.

واژه‌های کلیدی: توصیف نامه، روابط فیلوژنتیکی، شاخص‌های مورفولوژی، مرکبات

مقدمه

تیره مرکبات (Rutaceae) یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌های گیاهی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری به شمار می‌رود. مرکبات دربرگیرنده دسته بزرگی از میوه‌ها است که ازنظر تولید و مصرف مهم‌ترین آن‌ها شامل پرتقال (*Citrus sinensis*)، نارنگی (*C. reticulate*)، لایم (*C. aurantifolia*)، لمون (*C. lemon*)، گریپ‌فروت (*C. maxima*)، نارنج (*C. aurantium*)، بالنگ (*C. medica*) و... می‌باشند (۲۸). نظریه‌های متفاوتی در مورد منشأ مرکبات بیان‌شده است که بر اساس روابط فیلوژنتیک می‌توان بیان کرد که مرکبات در محدوده هندوستان تا شمال آفریقا گسترش داشته است (۳۴). لیموها (*Citrus. aurantifolia* و *C. lemon*) دسته بزرگ و متنوعی در درون گروه بزرگ مرکبات می‌باشند. منشأ لایم‌ها بر اساس گزارش‌ها سوینگل جزایر هند شرقی است که ازآنجا به اروپا منتقل گردیده‌اند (۶) اما منشأ لمون‌ها با دقت بالایی شناسایی نشده و این احتمال وجود دارد که لمون‌ها به دلیل شباهت بالای آنها، حاصل تلاقی بالنگ و لایم باشند. این موضوع تائید کننده این نظریه است که بالنگ و لایم جزو مرکبات اولیه هستند (۱۰). تمام گیاهانی که جزو مرکبات‌اند به‌صورت درخت باضخامت پوست کمتر از ۵ میلی‌متر است. برگ‌ها معمولاً ساده با شکل تخم‌مرغی تا نیزه‌ای همراه با دمبرگ که در اندازه‌های و شکل مختلف است (در میان گونه‌های متفاوت). میوه عموماً هسپریدیم[3] خوانده می‌شود که از قاچ‌های که توسط کیسه‌های ترشحی پرشده ، تشکیل گشته است که بذرها در

۱- استادیار، پژوهشکده چای، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: shjahangirzadeh@gmail.com)
۲- دانشیار، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران

3- Hesperidium

DOI: 10.22067/jhorts4.v34i4.85292

قسمت مرکزی این قاچها قرار دارند. قاچها توسط پوشش عموماً سفید اندوکارپ[1] و سپس قشر خارجی[2] که غدد روغنی زیاد دارد، احاطه‌شده‌اند. رنگ قسمت گوشتی و لایه خارجی بسیار متنوع است (از سبز تا زرد، نارنجی و قرمز) (۲۸).

تاکنون مطالعات زیادی در زمینه بررسی تفاوت‌های ژنتیکی گیاهان زیرمجموعه مرکبات با کاربرد نشانگرهای گوناگون صورت گرفته است. صفات مورفولوژیکی اولین و اساسی‌ترین مرحله در توصیف و طبقه‌بندی ژرم‌پلاسم هستند، و به‌عنوان اصول اصلی در اصلاح گیاهان (انتخاب و بررسی صفات موردعلاقه) به کار گرفته می‌شوند به‌گونه‌ای که این صفات ممکن است در یک رقم جدید جمع شوند (۸ و ۳۳). درگذشته به دلیل وجود توارث پذیری بالا ویژگی‌های موفولوژی جهت شناسایی و تشخیص جنس‌های *Citrus* بکار برده می‌شده‌اند. یافتن روابط متقابل بین ویژگی‌های مورفولوژیکی ممکن است در گزینش شاخص‌های انتخاب قابل‌استفاده باشد و با استفاده از برخی خصوصیات ساده بتوان شاخص‌های پیچیده را گزینش و انتخاب نمود (۱۵). تفاوت در برخی از ویژگی‌های میوه ممکن است به دلیل تکثیر بذری، اختلاف در آب‌وهوا و نحوه گرده‌افشانی باشد (۳۵). مرکبات به دلیل برخی خصوصیات خاص از قبیل سازگاری جنسی آنها با جنس‌های مرتبط و همچنین سازگاری بین‌گونه‌ای ازلحاظ گوناگونی، تنوع قابل‌توجهی دارند (۵). علاوه بر این، ازآنجاکه تفاوت گونه‌های مختلف لایم اسپرماتوفیتیک است و سابقه طولانی ازنظر کشت دارند لذا ژنوتیپ‌های متفاوتی در مناطق جنوبی ایران مشاهده می‌گردد (۲۶).

امروزه از نشانگرهای ژنتیکی جهت حفاظت و مدیریت و همچنین شناسایی بهتر و مناسب‌تر ژرم‌پلاسم‌های باغبانی استفاده می‌گردد (۱۶). نشانگرهای مورفولوژی که دسته بزرگی از نشانگرها می‌باشند نیز در دسته نشانگرهای ژنتیکی قرار دارند (۲۳). مالیک و همکارانش در سال ۲۰۱۲ (۲۲) در بررسی تفاوت‌های ژنتیکی ارقام پرتقال (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) در هند از نشانگرهای مورفولوژی و مولکولی RAPD استفاده نمودند. شاهین-چویک و آ.مووری در سال ۲۰۱۲ (۲۹) نیز از نشانگرهای مورفولوژی برای بررسی صفات کمی (QTL) جنس *Citrus* استفاده کردند. با کاربرد نشانگرهای مورفولوژی و مولکولی شناسایی و روابط ژنتیکی ماندارین‌ها (*Citrus reticulata* Blanco.) توسط پال و همکاران (۲۵)، کامپوس و همکاران (۴) و کئوهلر-سانتوس و همکاران (۲۰) در سه منطقه متفاوت بررسی شدند. دورجی و یاپ‌واتادافیوم (۷) در بررسی اکسیشن‌های نارنگی (*Citrus reticulata* Blanco.) با استفاده از ویژگی‌های مورفولوژی نتیجه‌گیری نمودند که داده‌های حاصل از بررسی طول و عرض برگ؛ عرض، طول و قطر میوه؛ ضخامت اپی‌کارپ و تعداد بذر در میوه نسبت به ویژگی‌های گل جهت بررسی مناسب‌تر هستند. برای بررسی تنوع ژنتیکی درختان مرکباتی که تحت عنوان لایم شناخته می‌گردند نیز تحقیقات وسیعی انجام‌شده است (۱۷، ۱۹، ۲۶ و ۳۵)، خیاوی و همکاران (۱۹) که بر روی ۲۹ نمونه مناطق میناب، منوجان، داراب، شمال و نمونه‌های استاندارد تحت عنوان لایم مطالعاتی داشته دارای ۷ ژنوتیپ مشترک (حدود ۲۳٪) با مطالعه حاضر بود یکی از جامع‌ترین مطالعات صورت گرفته بر روی نمونه‌های مناطق کشت لایم در جنوب است.

از نشانگرهای مورفولوژیکی همچنین در بررسی گیاهان متعددی مانند هلو برای تهیه نقشه لینکاژی در ترکیب با نشانگرهای دیگر (RFLP و RAPD) (۲۷)، در کیوی برای بررسی و شناسایی ژرم پلاسم (۹) در بادام به جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی (۳۰) استفاده شده است.

در این مطالعه برخی ژنوتیپ‌های لایم و لمون در جنوب ایران را ازنظر صفات مورفولوژیکی بررسی شد تا به اطلاعات موجود از آنها اضافه کرده و بتوان از آنها در برنامه‌های بهنژادی استفاده مناسب‌تری نمود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

تعداد ده درخت از منطقه میناب به‌عنوان نوار جنوبی مرکبات کاری که محصول عمده آن مناطق لیمو است از کلکسیون ایستگاه تحقیقاتی آن شهرستان انتخاب گردید که در انتخاب نمونه‌ها باز هم سعی بر این بود که نمونه‌هایی انتخاب گردند که کل منطقه را پوشش دهند. شش درخت از منطقه منوجان به‌عنوان حدفاصل مابین نوار جنوبی مرکبات کاری و منطقه مرکزی مرکبات کاری انتخاب گردیدند. جهت آنکه منطقه مرکزی مرکبات کاری ایران نیز به‌طور بیشتری تحت پوشش قرار گیرد نیز تعداد هفت درخت از منطقه داراب به‌عنوان منطقه‌ای در غرب ناحیه مرکبات کاری مرکزی برگزیده شدند. هفت نمونه از ارقام تجاری شامل مکزیکن لایم، لیمو لیسبون، بالنگ، سلطان مرکبات (پوملو)، پرتقال سیاورز، راف‌لمون و پرشین لایم به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند که این نمونه‌ها از پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیر در رامسر تهیه گشتند. دلیل این گستردگی نمونه‌های شاهد کمک به افزایش دقت بررسی تنوع و تعیین مسیر تکاملی و فیلوژنتیک بود. نکته لازم به ذکر این است که تمام درختان در مرحله بلوغ بودند. این پروژه در دو سال متوالی (۱۳۹۱ و ۱۳۹۲) انجام شد. جدول ۱ اسامی نمونه‌های مورد بررسی و شکل ۱ مناطقی که نمونه‌های تحت پوشش قرار دادند را بیان می‌نماید.

1- Albedo
2- Flavedo

جدول ۱- نمونه‌های لیمو اسیدی بکار رفته در بررسی مورفولوژی
Table 1- Acid lime samples used in morphological analysis

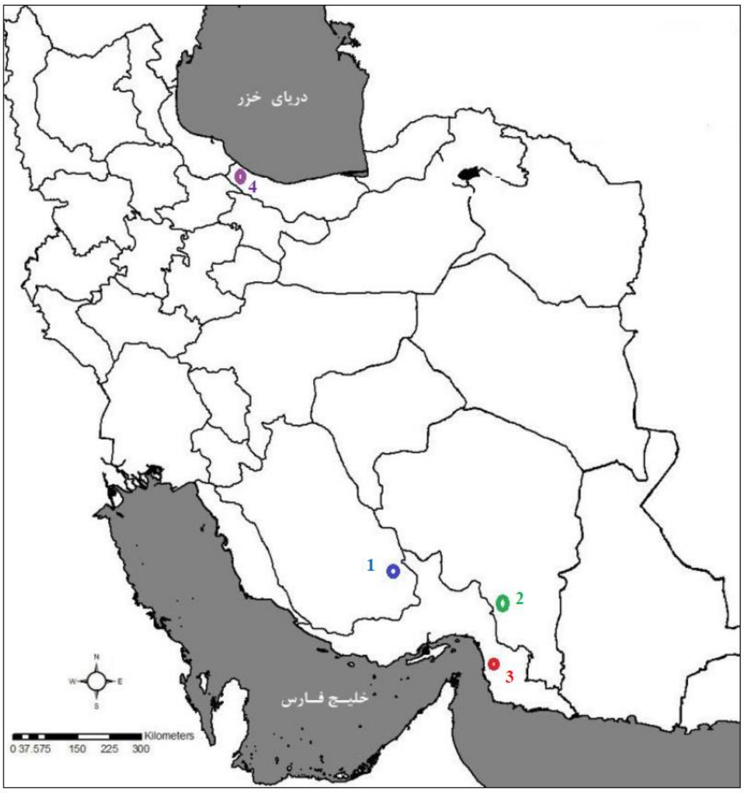
کد نمونه Plant code*	نام محلی Local name	محل جمع‌آوری Location	نام علمی Scientific name	کد نمونه Plant code*	نام محلی Local name	محل جمع‌آوری Location	نام علمی Scientific name
D1	لیمو فری Feri lime	داراب Drab	*Citrus* sp.	M1-13	ناشناس Unknown	میناب Minab	*Citrus* sp.
D2	لیمو بکرایی Bakrai lime	داراب Drab	*Citrus* sp.	M1-14	ناشناس Unknown	میناب Minab	*Citrus* sp.
D3	ناشناس Unknown	داراب Drab	*Citrus* sp.	M2-2	ناشناس Unknown	رودان Rudan	*Citrus* sp.
D4	ناشناس Unknown	داراب Drab	*Citrus* sp.	M2-8	ناشناس Unknown	رودان Rudan	*Citrus* sp.
D5	لیمو چهارفصل Four season lime	داراب Drab	*Citrus* sp.	M2-10	ناشناس Unknown	رودان Rudan	*Citrus* sp.
D6	لیمو سنگی Rock lemon	داراب Drab	*Citrus* sp.	M4-2	ناشناس Unknown	سندرک Senderk	*Citrus* sp.
D7	لیمو خیاری Cucumber lime	داراب Drab	*Citrus* sp.	M5-1	ناشناس Unknown	جغین Jaghin	*Citrus* sp.
MA5	منوجان ۵ Manojan 5	منوجان Manojan	*Citrus* sp.	M5-2	ناشناس Unknown	جغین Jaghin	*Citrus* sp.
MA6	منوجان ۶ Manojan 6	منوجان Manojan	*Citrus* sp.	S1	مکزیکن لایم Mexican lime	رامسر Ramsar	*Citrus aurantifolia*
MA7	منوجان ۷ Manojan 7	منوجان Manojan	*Citrus* sp.	S2	لیمو لیسبون Lisbon lemon	رامسر Ramsar	*Citrus* × *limon*
MA8	منوجان۸ Manojan 8	منوجان Manojan	*Citrus* sp.	S3	پرتقال سیاورزی Siavaraz sweet orange	رامسر Ramsar	*C. sinensis*
MA9	منوجان۹ Manojan 9	منوجان Manojan	*Citrus* sp.	S5	راف لمون Rough lemon	رامسر Ramsar	*Citrus jambhiri*
MA10	منوجان ۱۰ Manojan 10	منوجان Manojan	*Citrus* sp.	S6	سلطان مرکبات Pummelo	رامسر Ramsar	*C. grandis*
M1-1	رودان لایم Rudan lime	میناب Minab	*Citrus* sp.	S7	پرشین لایم Persian lime	رامسر Ramsar	*Citrus* × *latifolia*
M1-10	ناشناس Unknown	میناب Minab	*Citrus* sp.	S10	بالنگ Citron	رامسر Ramsar	*C. medica*

کد نمونه‌ها: D: نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از منطقه داراب، MA: نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از منطقه منوجان، M: نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از منطقه میناب، S: نمونه‌های شاهد (از منطقه رامسر)

آنالیز مورفولوژی

برای بررسی مورفولوژی و خصوصیات ظاهری درختان در کل ۴۱ صفت کمی و کیفی (۹ صفت کمی و ۳۲ صفت کیفی) در رابطه با هر درخت، ده برگ، پنج میوه و بذر داخل پنج میوه مورد بررسی قرار گرفت. انتخاب صفات مورد بررسی بر اساس توصیف نامه توصیه شده توسط موسسه بین‌المللی بررسی ژنتیک گیاهان[1] صورت پذیرفت (۱۳). برای آنکه اثر محیط در بررسی کم گردد عمل نمونه‌گیری در دو سال متفاوت با سه تکرار انجام شد. جدول ۲ صفات بررسی‌شده را نشان می‌دهد.

1- International Plant Genetic Resources Institute



شکل ۱- مناطق جمع‌آوری نمونه‌های ژنوتیپ‌های لایم (*Citrus aurantifolia*) مورد بررسی: شماره ۱ داراب (۵٤,۵۳E، ۲۸,۷۵N)، شماره ۲ منوجان (۵۷,٤۹E، ۲۷,٤۰N)، شماره ۳ میناب (۵۷,۰۷E، ۲۷,۱٤N)، و شماره ٤ رامسر (۵۰,٦٤E، ۳٦,۹۲N).

Figure 1- Collection sites of the studied samples of lime genotypes (*Citrus aurantifolia*) (1= Darab (54.53E, 28.75N), 2= Manojan (57.49E, 27.40N), 3= Minab (57.07E, 27.14N) and 4= Ramsar (50.64E, 36.92N)

جهت بررسی داده‌ها از روش به‌کاربرده توسط خیاوی و همکاران (۱۹) استفاده شد. بنابراین داده‌های حاصل جهت بررسی ابتدا توسط نرم‌افزار Ntsys و ضریب YBAR استاندارد سازی شده و سپس توسط همین نرم‌افزار ماتریس تشابه بر اساس ضریب تشابه ساده[1] محاسبه گردید. جهت طراحی کلاستر بر اساس ماتریس تشابه از الگوریتم UPGMA در نرم‌افزارNTSYS-pc, v. 2.02 استفاده شد. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی[2] برای گروه‌بندی نمونه‌ها صورت گرفت و تجزیه بای‌پلات توسط نرم‌افزار Past-pc, v. 4.03 صورت گرفت.

نتایج و بحث

شناسایی نمونه‌ها بر اساس توصیف نامه IPGRI برای مورفولوژی برگ و میوه نمونه‌های لیموی چهار استان عمده کاشت مرکبات ایران صورت گرفت. تمام نمونه‌های لیمو گزینش‌شده ازنظر مورفولوژی مشابه یکدیگر بودند، اگرچه برخی از آنها تفاوت‌های کوچک و کمی در ویژگی‌هایی مانند شکل درخت، زاویه شاخه، شکل نوک برگ و حاشیه پهنک، طول دمبرگ، شکل پهنک، اندازه (طول و عرض) پهنک‌برگ و شکل بذر نشان دادند. تفاوت در برخی ویژگی‌های موردبررسی احتمالاً به تکثیر بذری، آب‌وهوای متفاوت و نحوه گرده‌افشانی بازمی‌گردد (۳۵).

جهت مشخص نمودن بهترین ضریب برای محاسبه ماتریس تشابه دوبه‌دو و تجزیه کلاستر ضریب کوفنتیک برای سه ضریب دایس، جاکارد و تشابه ساده محاسبه گردید و بالاترین میزان ضریب کوفنتیک با میزان ۰/۷۹ متعلق به ضریب تشابه ساده و الگوریتم UPGMA بود . این ضریب نشان می‌دهد چه میزان از اطلاعات ماتریس تشابه محاسبه‌شده به کلاستر طراحی‌شده منتقل‌شده‌اند. بر این اساس، ضریب تشابه ساده برای محاسبه ماتریس تشابه و الگوریتم UPGMA برای طراحی کلاستر مورداستفاده قرار گرفتند. بالاتر بودن میزان ضریب کوفنتیک دلالت بر رابطه بیشتر ماتریس تشابه محاسبه‌شده و کلاستر طراحی‌شده است (۲۴).

1- Simple Matching Coefficient
2- Principal component analysis (PCA)

جدول ۲- صفات مورفولوژیکی مورد بررسی برخی ژنوتیپ‌های لایم (*Citrus aurantifolia*)

Table 2- Investigated morphological characters of lime genotypes (*Citrus aurantifolia*)

ردیف Row	صفات Characteristics	ردیف Row	صفات Characteristics	ردیف Row	صفات Characteristics
1	عادت رشدی درخت Tree growth habit	15	پهنای گوشوارک Petiole wing width	29	رنگ میانبر (آلبیدو) Albedo colour
2	زاویه شاخه Branch angle	16	شکل گوشوارک Petiole wing shape	30	انتهای نزدیک به خامه میوه Fruit stylar end
3	شکل درخت بالغ Tree shape	17	شکل میوه Fruit shape	31	تعداد پره در هر میوه Number of segments per fruit
4	رنگ نوک شاخه Shoot tip color	18	شکل قاعده میوه Shape of fruit base	32	چسبیدگی دیواره پره‌ها به یکدیگر Adherence of segment walls to each other
5	تراکم تیغ در درخت بالغ Spine density on adult tree	19	شکل سر میوه Shape of fruit apex	33	ضخامت دیواره پره‌ها Thickness of segment walls
6	شکل تیغ Spine shape	20	رنگ پوست (اپیکارپ) میوه Fruit skin (epicarp) colour	34	محور میوه Fruit axis
7	شکل پهنک Leaf lamina shape	21	ضخامت پوست در استوای میوه Width of epicarp at equatorial area	35	رنگ گوشت (پالپ) Pulp (flesh) colour
8	حاشیه پهنک leaf lamina margin	22	وزن میوه Fruit weight	36	بافت گوشت Pulp firmness
9	نوک برگ leaf apex	23	طول میوه Fruit length	37	طول کیسه‌های ترشحی Vesicle length
10	طول پهنک Leaf lamina length	24	قطر میوه Fruit diameter	38	متوسط تعداد بذر در هر میوه Average number of seeds per fruit
11	عرض پهنک Leaf lamina width	25	نسبت طول به قطر میوه Ratio fruit length/ diameter	39	شکل بذر Seed shape
12	نسبت طول به عرض پهنک Ratio leaf lamina length/width	26	بافت سطح پوست میوه Fruit surface texture	40	سطح بذر Seed surface
13	طول دمبرگ Petiole length	27	چسبندگی آلبیدو (مزوکارپ) به گوشت (اندوکارپ) Adherence of albedo (mesocarp) to pulp (endocarp)	41	رنگ بذر Seed colour
14	وضعیت گوشوارک Petiole condition	28	وضوح غدد ترشحی Nature (conspicuousness) of oil glands		

بررسی ماتریس تشابه بر اساس ضریب تشابه ساده[1] (SM) (جدول ۳) برای داده‌های مورفولوژیکی بیان داشت که مابین نمونه‌ها در دامنه ۰/۱۴۱ الی ۰/۶۸۳ شباهت وجود دارد. متوسط میزان تشابه نیز ۰/۳۸۸ به دست آمد. بر اساس نتایج ۶۲/۱۵ در صد مقایسه‌ها کمتر از میانگین و ۳۷/۸۵٪ بالای میانگین بودند. حداکثر میزان تشابه به دو نمونه مکزیکن لایم و پرشین لایم تعلق داشت و حداکثر میزان تفاوت نیز مابین نمونه‌های MA6 با M2-8، S6 با MA8، S1 با M1-13 و S6 با S10 مشاهده شد. در مطالعات گذشته نیز سلطان مرکبات (S6) از سایر نمونه‌ها فاصله گرفته و جداشده بود (۳، ۱۷ و ۱۹)، بنابراین جدا شدن سلطان مرکبات غیرطبیعی نبود. در بررسی مورفولوژی مرکبات، محدوده تنوع ژنتیکی محاسبه‌شده توسط شاخص های مورفولوژیکی عموماً در محدوده‌ای که در بررسی حاضر محاسبه گشته است. کوئهلر-سانتوس و همکاران (۲۰) در بررسی تنوع ژنتیکی نارنگی‌های برزیل، متوسط شباهت ۰/۶ را توسط ویژگی‌های مورفولوژیکی محاسبه نمودند. همچنین کومار و همکاران (۲۱) در نارنگی حداکثر و حداقل شباهت محاسبه‌شده توسط ویژگی‌های مورفولوژیکی را به ترتیب ۰/۴۵ و ۰/۱۷ مشاهده کردند. پال و همکاران (۲۵) نیز در بررسی نارنگی با استفاده از ۳۳ شاخص مورفولوژی دامنه شباهت را مابین ۰/۱۵الی ۰/۷۳ با متوسط ۰/۴۴ به

1- simple matching coefficient

دست آورند. کامپوس و همکاران (۴) نیز به‌وسیله نشانگرهای مورفولوژیکی به بررسی تنوع ژنتیکی نارنگی‌ها اقدام نمودند و با ۲۰ ویژگی کمی و ۱۰ صفت کیفی ضریب تشابه بین ۰/۱۵ الی ۰/۷۳ را گزارش کردند. با توجه به آنکه این دو مطالعه پال و همکاران (۲۵) و کامپوس و همکاران (۴) در داخل یک‌گونه صورت گرفته و با توجه به اینکه اکثر نمونه‌های ما نیز ویژگی مشابه مکزیکن لایم را نشان می دادند، می‌توان نتیجه گرفت که دامنه تفاوت محاسبه‌شده در بررسی ما نیز طبیعی است که این دامنه به‌دست‌آمده دامنه‌ای زیاد و گسترده است. خیاوی و همکاران (۱۹) نیز در بررسی تنوع مورفولوژیک لایم‌های سه منطقه عمده کشت این گیاه دامنه تشابهی در محدوده ۰/۱۹ الی ۰/۸۸ با متوسط ۰/۴ گزارش نموده‌اند.

در بررسی حاضر میانگین شاخص‌های برگ شامل طول برگ، عرض برگ و طول دمبرگ به ترتیب برابر ۷۹/۵۱، ۷۴/۲۵ و ۱۷/۴۵ میلی‌متر بود که ۳۳/۳۳ در صد نمونه‌ها طول برگ کمتر از متوسط ۶/۶۷ ٪ عرض برگ کمتر از متوسط و ۱۰٪ نیز طول دمبرگ کمتر از متوسط داشتند. در رابطه با میوه نیز متوسط ضخامت پوست در استوای میوه ۴/۰۵ میلی‌متر، وزن میوه ۹۹/۹۷ گرم، طول و قطر میوه نیز به‌ترتیب ۵۸/۰۶ و ۵۱/۵۳ میلی‌متر محاسبه شد که در ۳۰٪ نمونه ها ضخامت پوست کمتر از حد متوسط بود. ۲۶/۶۷ ٪، ۳۳/۳۳ ٪ و ۳۳/۳۳ ٪، نمونه‌ها نیز میانگین کمتر از اندازه محاسبه‌شده برای وزن، طول و قطر میوه را نشان دادند.

در رابطه با این ویژگی‌ها، شاخص‌های برگ (عرض و طول پهنک و طول دمبرگ) و میوه (ضخامت پوست در استوا میوه، وزن، طول و قطر میوه) باید خاطرنشان نمود که نمونه‌های M1-14، S6 یا همان سلطان مرکبات و S10 یا همان بالنگ در اکثر ویژگی بالاتر از حد متوسط بودند. اگر این نمونه‌ها از میانگین حذف و مجدد میانگین گیری شود به دلیل آنکه میزان محاسبه‌شده برای آن فوق‌العاده بالا است، مشاهده می‌شود که اکثر ژنوتیپ‌های لیمو موردبررسی در ویژگی‌های مطرح‌شده مشابه دو نمونه لایم استاندارد موردبررسی (مکزیکن لایم و پرشین لایم) می‌باشند.

همانطور که در کلاستر طراحی‌شده (شکل ۲) مشاهد می‌گردد نمونه‌ها در میزان تشابه ۰/۳۲ به چهار گروه اصلی تقسیم گردیدند. گروه اول شامل تنها یک نمونه (S6) یا سلطان مرکبات بود که این موضوع نشان از فاصله زیاد این نمونه از دسته لایم‌ها و لمون‌ها می‌باشد. در مطالعات پیشین نیز این نمونه به‌عنوان اجداد اولیه مرکبات مطرح‌شده بود (۳). در مطالعه خیاوی و همکاران (۱۹) نیز دو نمونه سلطان مرکبات و ژنوتیپ جمع‌آوری‌شده بانام لیمو گلاب آمل نیز در همین محدوده تشابه از سایر نمونه‌های لایم و لمون جداشده‌اند. جدا شدن سلطان مرکبات از سایر نمونه‌های دیگر مرکبات با استفاده از نشانگرهای مولکولی در مطالعات عابدین پور و همکاران (۱)، العنباری و همکاران (۲) و گولسن و روز (۱۲) مشاهده‌شده بود.

گروه دوم تماماً نمونه‌های منطقه میناب را شامل می‌شد. نکته مهم اولیه که از این گروه‌بندی به دست آمد تفکیک شدن نمونه‌های لیمو منطقه نواری شمال دریای عمان از سایر نمونه‌های لیمو (چه تجاری و چه ژنوتیپ‌های جمع‌آوری‌شده) بود. در مطالعه‌های خیاوی و همکاران (۱۹) و راهب و همکاران (۲۶) که نمونه‌هایی از منطقه میناب را بررسی نموده‌اند مسیر تفکیکی مشابهی را نشان دادند و در مطالعات آنها نیز نمونه‌های منطقه میناب گروه خاص خود را تشکیل داده‌اند. تشکیل یک گروه شاخص برای نمونه‌های میناب می‌تواند به دلیل مسیر تکاملی خاص برای این نمونه‌ها باشد، به‌طوری‌که در این منطقه فقط کاشت لیمو رایج بوده و تقریباً هیچ‌گونه مرکبات دیگری وجود ندارد که جریان ژنی را به این منطقه وارد نماید و همچنین تکثیر لیموها در این منطقه از راه بذر است و به دلیل ذکرشده در بالا، حفاظت‌شدگی ژنوتیپ‌ها در این منطقه طبیعی به نظر می‌رسد. گروه سوم نیز تنها دو نمونه پرتقال محلی (S3) و بالنگ (S10) که به‌عنوان شاهد در بررسی قرار داشتند را شامل بود. قرارگیری بالنگ در میانه‌های کلاستر با موضوع جد اولیه بودن این گیاه (۳) برای انواع مرکبات کاملاً همخوانی دارد. از این دو نمونه، رقم پرتقال فاقد رابطه ژنتیکی گزارش‌شده با لیموها (لایم و لمون) است. بالنگ نیز که به‌عنوان یکی از اجداد اولیه لمون‌ها مطرح است (۳) ازنظر ویژگی‌های مورفولوژیکی تفاوت‌های بارزی با لمون‌ها دارد، بنابراین جدا شدن این نمونه‌ها منطقی و اصولی است. نتایج گزارش‌شده در بررسی‌های صورت گرفته توسط نشانگرهای مولکولی نیز جدا شدن این نمونه‌ها از لیموها را گزارش کرده‌اند (۲، ۱۱، ۳۱ و ۳۲).

اما در گروه چهارم که شامل ۱۷ نمونه (۵۶/۶۶ در صد کل نمونه‌ها) بود پیچیدگی بیشتری مشاهده می‌شد زیرا که نمونه‌های شاهد لایم و لمون و ناحیه مرکزی مرکبات کاری ایران که خود دو منطقه داراب و منوجان را شامل می‌شد در برداشت. در این گروه در حد تشابه ۳۸٪ ابتدا رقم لیمو لیسبون از سایر نمونه‌ها جدا گشت و در ادامه نمونه‌های منطقه منوجان زیرگروه خاص خود را تشکیل دادند و تنها یک نمونه از این منطقه (MA10) در زیرگروه سوم به همراه نمونه‌های منطقه داراب و سه رقم مکزیکن لایم، پرشین لایم و راف‌لمون قرار گرفت. این جدا شدن و تشکیل یک زیرگروه خاص برای نمونه‌های منطقه منوجان بر اساس داده‌های مورفولوژیکی می‌تواند نشان از مسیر تکاملی جداگانه‌ای از نمونه‌های هم‌گروه باشد. دلایل مشابه، دلایل ذکرشده برای حفاظت‌شدگی نمونه‌های میناب، برای نمونه‌های این منطقه نیز صادق است. اما ازآنجایی‌که نمونه‌های انتخابی از این منطقه محدود بودند، با قاطعیت نمی‌توان در رابطه با این موضوع که آیا این جمعیت از سایر نمونه‌ها باید جدا گردند یا خیر، اظهارنظر نمود.

جدول ۳- ماتریس تشابه بر اساس داده‌های مورفولوژیکی برخی ژنوتیپ‌های لایم (*Citrus aurantifolia*)

Table 3- Similarity matrix based on the morphological data of lime genotypes (*Citrus aurantifolia*)

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	MA5	MA6	MA7	MA8	MA9	MA10	M1-1	M1-10	M1-13	M1-14	M2-2	M2-8
D1	1.000																		
D2	0.537	1.000																	
D3	0.439	0.390	1.000																
D4	0.537	0.463	0.463	1.000															
D5	0.488	0.488	0.512	0.439	1.000														
D6	0.390	0.415	0.463	0.439	0.439	1.000													
D7	0.390	0.390	0.463	0.415	0.463	0.390	1.000												
MA5	0.341	0.341	0.341	0.390	0.317	0.415	0.341	1.000											
MA6	0.439	0.293	0.415	0.366	0.390	0.341	0.366	0.341	1.000										
MA7	0.415	0.366	0.488	0.439	0.415	0.415	0.439	0.439	0.488	1.000									
MA8	0.341	0.293	0.366	0.366	0.415	0.268	0.415	0.488	0.415	0.512	1.000								
MA9	0.390	0.366	0.366	0.317	0.415	0.268	0.268	0.317	0.463	0.463	0.415	1.000							
MA10	0.390	0.293	0.488	0.341	0.463	0.439	0.390	0.390	0.463	0.463	0.366	0.463	1.000						
M1-1	0.341	0.415	0.293	0.366	0.341	0.293	0.171	0.366	0.390	0.341	0.341	0.390	0.317	1.000					
M1-10	0.317	0.341	0.317	0.390	0.366	0.268	0.220	0.390	0.415	0.268	0.366	0.341	0.317	0.561	1.000				
M1-13	0.293	0.317	0.317	0.341	0.268	0.293	0.195	0.341	0.293	0.341	0.244	0.195	0.317	0.463	0.341	1.000			
M1-14	0.415	0.317	0.341	0.415	0.293	0.244	0.293	0.341	0.390	0.415	0.390	0.268	0.293	0.415	0.488	0.415	1.000		
M2-2	0.366	0.293	0.415	0.366	0.390	0.317	0.317	0.366	0.317	0.390	0.317	0.268	0.366	0.488	0.512	0.439	0.439	1.000	
M2-8	0.220	0.293	0.220	0.268	0.195	0.268	0.220	0.244	0.146	0.220	0.171	0.171	0.244	0.439	0.341	0.390	0.317	0.366	1.000
M2-10	0.390	0.244	0.366	0.366	0.341	0.244	0.366	0.317	0.341	0.341	0.244	0.220	0.415	0.366	0.415	0.512	0.439	0.561	0.341
M4-2	0.390	0.366	0.463	0.390	0.439	0.293	0.293	0.390	0.293	0.415	0.415	0.366	0.366	0.463	0.512	0.439	0.390	0.561	0.293
M5-1	0.366	0.220	0.366	0.341	0.341	0.268	0.341	0.317	0.341	0.366	0.366	0.268	0.341	0.415	0.463	0.390	0.512	0.512	0.317
M5-2	0.293	0.220	0.220	0.317	0.366	0.244	0.268	0.293	0.244	0.244	0.341	0.244	0.341	0.439	0.439	0.390	0.341	0.585	0.415
S1	0.463	0.390	0.415	0.415	0.439	0.293	0.439	0.366	0.366	0.439	0.415	0.415	0.341	0.244	0.268	0.146	0.317	0.341	0.220
S2	0.415	0.366	0.366	0.317	0.268	0.341	0.317	0.366	0.293	0.317	0.268	0.293	0.341	0.244	0.293	0.341	0.366	0.268	0.220
S3	0.415	0.415	0.366	0.317	0.341	0.317	0.293	0.317	0.220	0.317	0.341	0.317	0.195	0.366	0.293	0.220	0.317	0.341	0.341
S5	0.463	0.390	0.341	0.463	0.415	0.341	0.366	0.366	0.293	0.366	0.317	0.268	0.415	0.341	0.317	0.317	0.366	0.341	0.268

ادامه جدول ۳- ماتریس تشابه بر اساس داده‌های مورفولوژیکی برخی ژنوتیپ‌های لایم (*Citrus aurantifolia*)

Continue Table 3- Similarity matrix based on the morphological data of lime genotypes (*Citrus aurantifolia*)

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	MA5	MA6	MA7	MA8	MA9	MA10	M1-1	M1-10	M1-13	M1-14	M2-2	M2-8
S6	0.268	0.220	0.268	0.268	0.268	0.220	0.244	0.220	0.293	0.220	0.146	0.244	0.293	0.366	0.268	0.268	0.244	0.293	0.220
S7	0.488	0.415	0.390	0.415	0.488	0.293	0.463	0.390	0.366	0.415	0.439	0.366	0.317	0.268	0.341	0.220	0.341	0.415	0.244
S10	0.341	0.293	0.341	0.341	0.293	0.341	0.244	0.268	0.268	0.293	0.293	0.341	0.268	0.268	0.220	0.268	0.268	0.268	0.220

ادامه جدول ۳- ماتریس تشابه بر اساس داده‌های مورفولوژیکی برخی ژنوتیپ‌های لایم (*Citrus aurantifolia*)

Continue Table 3- Similarity matrix based on the morphological data of lime genotypes (*Citrus aurantifolia*)

	M2-10	**M4-2**	**M5-1**	**M5-2**	**S1**	**S2**	**S3**	**S5**	**S6**	**S7**	**S10**
M2-10	1.000										
M4-2	0.463	1.000									
M5-1	0.488	0.415	1.000								
M5-2	0.463	0.415	0.439	1.000							
S1	0.220	0.317	0.268	0.317	1.000						
S2	0.293	0.220	0.317	0.220	0.366	1.000					
S3	0.244	0.317	0.341	0.317	0.415	0.366	1.000				
S5	0.366	0.341	0.317	0.293	0.415	0.317	0.341	1.000			
S6	0.293	0.317	0.244	0.268	0.268	0.317	0.244	0.268	1.000		
S7	0.293	0.390	0.317	0.366	0.683	0.366	0.439	0.439	0.220	1.000	
S10	0.220	0.244	0.195	0.268	0.341	0.268	0.512	0.244	0.146	0.341	1.000

جدول ٤- نتایج صفات مورفولوژیک غالب (معیار ارزیابی بیش از ۵۰ در صد در هر دو گروه) در ژنوتیپ‌های لایم

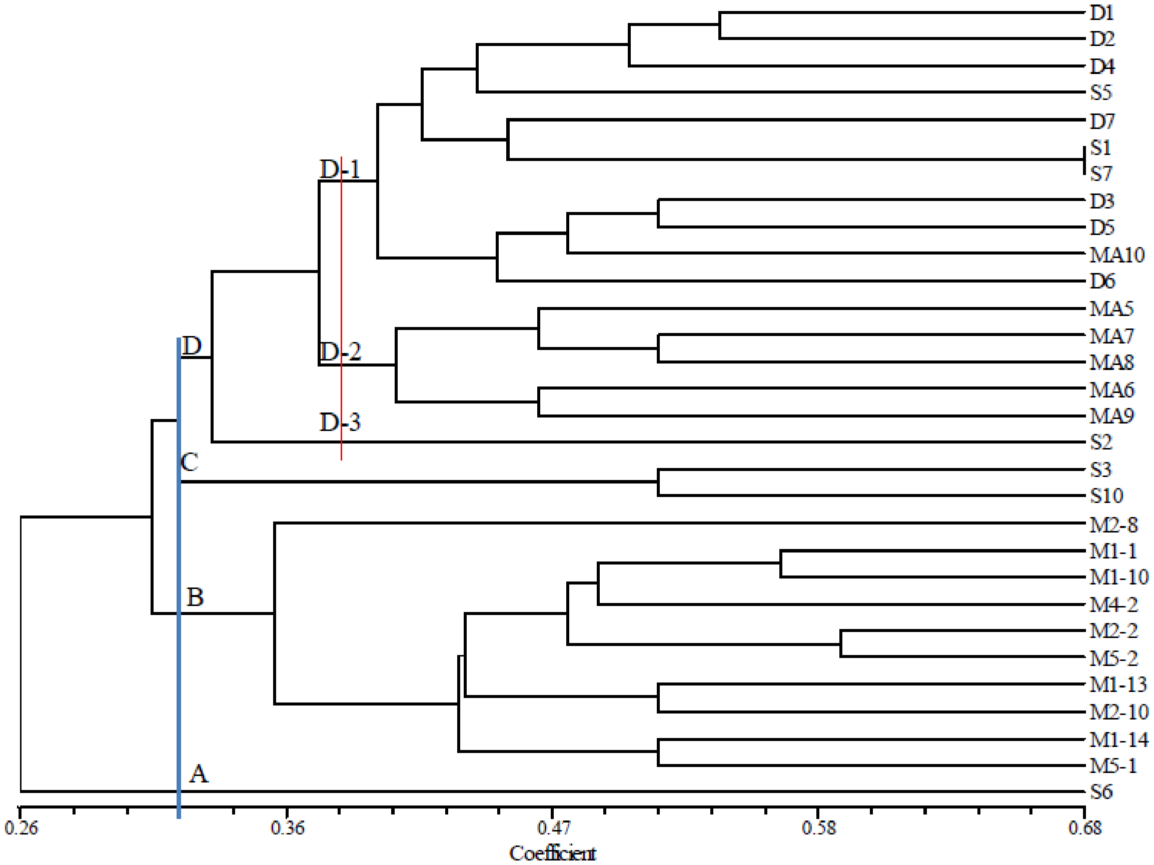
Table 4- Results of the dominant morphological traits (criteria for the evaluation of more than 50% of both group members) in lime genotypes

صفت Traits	گروه A Group A	گروه B Group B	گروه C Group C	گروه D Group D			
				زیرگروه D-1 Subgruop D-1	زیرگروه D-2 Subgruop D-2	زیرگروه D-3 Subgruop D-3	گروه D Group D
عادت رشدی درخت Tree growth habit	پخش و گسترده Drooping	عمودی و افراشته Erect	*N	پخش و گسترده Drooping	پخش و گسترده Drooping	پخش و گسترده Drooping	پخش و گسترده Drooping
زاویه شاخه Branch angle	باز Wide	متوسط Medium	متوسط Medium	متوسط Medium	متوسط Medium	متوسط Medium	متوسط Medium
شکل درخت بالغ Tree shape	پهن Obloid	پهن Obloid	بیضوی Ellipsoid	N	کروی Spheroid	پهن Obloid	N
رنگ نوک شاخه Shoot tip color	ارغوانی Purple	سبز Green	سبز Green	سبز Green	سبز Green	ارغوانی Purple	سبز Green
تراکم تیغ در درخت بالغ Spine density on adult tree	کم Low	N	ندارد Absent	کم Low	N	کم Low	کم Low
شکل تیغ Spine shape	راست Straight	راست Straight	ندارد Absent	راست Straight	راست Straight	راست Straight	راست Straight
شکل پهنک Leaf lamina shape	واژ تخم‌مرغی Obovate	N	N	تخم‌مرغی Ovate	تخم‌مرغی Ovate	تخم‌مرغی Ovate	تخم‌مرغی Ovate
حاشیه پهنک Leaf lamina margin	صاف Entire	مضرس Dentate	صاف Entire	کنگره‌دار Crenate	کنگره‌دار Crenate	کنگره‌دار Crenate	کنگره‌دار Crenate
نوک برگ Leaf apex	گرد Rounded	گرد Rounded	باریک Attenuate	گرد Rounded	N	پهن Obtuse	گرد Rounded
طول پهنک Leaf lamina length	244.52	85.48	90.48	64.13	61.22	93.64	65.01
عرض پهنک Leaf lamina width	196.21	47.61	44.63	38.44	35.49	55.63	38.58
نسبت طول به عرض پهنک Ratio leaf lamina length/width	1.25	1.86	2.05	1.69	1.74	1.68	1.71
طول دمبرگ Petiole length	188.12	11.83	12.86	11.3	1.69	13.46	11.25
وضعیت گوشوارک Petiole condition	متوسط Medium	پیوسته Contiguous	N	متوسط Medium	متوسط Medium	پیوسته contiguous	متوسط Medium
پهنای گوشوارک Petiole wing width	پهن Broad	باریک Narrow	N	باریک Narrow	باریک Narrow	باریک Narrow	باریک Narrow
شکل گوشوارک Petiole wing shape	واژ تخم‌مرغی Obovate	باریک و کشیده Linear	M	باریک و کشیده Linear	باریک و کشیده Linear	قلبی Obcordate	باریک و کشیده Linear
شکل میوه Fruit shape	کروی Spheroid	کروی Spheroid	کروی Spheroid	کروی Spheroid	بیضوی Ellipsoid	بیضوی Ellipsoid	N
شکل قاعده میوه Shape of fruit base	بی‌سر Truncate	بی‌سر Truncate	N	N	گردن دار Necked	محدب Convex	N
شکل سر میوه Shape of fruit apex	نوک‌تیز Acute	N	مقعر Truncate	پستانکی Mammiform	پستانکی Mammiform	پستانکی Mammiform	پستانکی Mammiform
رنگ پوست میوه Fruit skin colour	سبز-زرد Green-yellow	N	N	سبز-زرد Green-yellow	سبز-زرد Green-yellow	زرد Yellow	سبز-زرد Green-yellow

ضخامت پوست در استوای میوه Width of epicarp at equatorial area	26.1	2.79	5.56	3.15	2.74	7.8	3.31
وزن میوه Fruit weight	970.4	80.95	120.48	62.24	30.94	139	57.55
طول میوه Fruit length	155.43	56.88	60.1	55.99	41.39	74.38	52.78
قطر میوه Fruit diameter	143.99	49.68	62.28	49.64	34.07	64.32	45.92
نسبت طول به قطر میوه Ratio Fruit length/ diameter	1.08	1.17	0.97	1.13	1.21	1.16	1.15
بافت سطح پوست میوه Fruit surface texture	ناهموار Bumpy	صاف Smooth	زبر Rough	N N	زبر Rough	زبر Rough	N
چسبندگی آلبیدو به گوشت Adherence of albedo to pulp	قوی Strong	متوسط Medium	متوسط Medium	N	متوسط Medium	قوی Strong	متوسط Medium
وضوح غدد ترشحی Nature (conspicuousness) of oil glands	واضح Conspicuous	واضح Conspicuous	N	واضح Conspicuous	واضح Conspicuous	واضح Conspicuous	واضح Conspicuous
رنگ میانبر (آلبیدو) Albedo colour	سفید White	سفید White	سفید White	سفید White	زرد Yellow	سفید White	سفید White
انتهای نزدیک به خامه میوه Fruit stylar end	خامه حاضر است Persistent style	بسته Closed	بسته Closed	بسته Closed	بسته Closed	باز Open	بسته Closed
تعداد پره در هر میوه Number of segments per fruit	15–18	10–14	10–14	10–14	5–9	10–14	10–14
چسبیدگی دیواره پره‌ها به یکدیگر Adherence of segment walls to each other	قوی Strong	N	N	متوسط Medium	متوسط Medium	قوی Strong	متوسط Medium
محور میوه Fruit axis	جامد Solid	جامد Solid	N	جامد Solid	جامد Solid	نیمه توخالی Semi-hollow	جامد Solid
ضخامت دیواره پره‌ها Thickness of segment walls	ضخیم Thick	نازک Thin	N	نازک Thin	نازک Thin	متوسط Medium	نازک Thin
رنگ گوشت Pulp (flesh) colour	زرد Yellow	زرد Yellow	نارنجی–قرمز Orange–red	زرد Yellow	زرد Yellow	زرد Yellow	زرد Yellow
بافت گوشت Pulp firmness	نرم Soft	نرم Soft	حد وسط Intermediate	حد وسط Intermediate	حد وسط Intermediate	حد وسط Intermediate	حد وسط Intermediate
طول کیسه‌های ترشحی Vesicle length	بلند Long	بلند Long	کوتاه Short	کوتاه Short	بلند Long	کوتاه Short	کوتاه Short
متوسط تعداد بذر در هر میوه Average number of seeds per fruit	10-19	1-4	5-9	1-4	10-19	5-9	N
شکل بذر Seed shape	تخم‌مرغی Ovoid	تخم‌مرغی Ovoid	سه‌گوش نیمه Semi-deltoid	N	مخروطی Fusiform	تخم‌مرغی Ovoid	تخم‌مرغی Ovoid
سطح بذر Seed surface	صاف Smooth	صاف Smooth	چروکیده Wrinkled	چروکیده Wrinkled	صاف Smooth	صاف Smooth	چروکیده Wrinkled
رنگ بذر Seed colour	کرم Cream	کرم Cream	کرم Cream	کرم Cream	کرم Cream	کرم Cream	کرم Cream

* هیچ ویژگی ۵۰٪ یا بالاتر نبود.

*No trait was 50% or higher.



شکل ۲- دندروگرام ۳۰ نمونه مرکبات مورد بررسی با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی. به روش UPGMA

(کد نمونه‌ها بر اساس جدول ۱ است)

Figure 2- Dendrogram of 30 citrus samples using morphological markers based on UPGMA

(Sample code are based on Table 1)

در بررسی خیاوی و همکاران (۱۹) که نمونه‌برداری از همین کلکسیون موردبررسی صورت گرفته بود در تجزیه کلاستر در ارتباط با نمونه‌های منطقه منوجان مسیر جدا شدن مشابهی دیده می‌گردد. از این گروه‌بندی می‌توان به این نتیجه رسید که اکثر نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از منطقه داراب جز لایم‌ها هستند. در بررسی شهسوار و همکاران (۳۲)، شهسوار و همکاران (۳۱)، جهانگیرزاده خیاوی و همکاران (۱۴)، خیاوی و همکاران (۱۸) و خانه‌دانی و همکاران (۱۷) نیز مشاهده شد که نمونه‌های منطقه داراب با مکزیکن لایم و پرشین لایم شباهت بالایی نشان می‌دهند.

برای بررسی الگوی تغییرات ویژگی‌های اندازه‌گیری شده و برای پیدا کردن ویژگی‌های تعیین‌کننده جهت تشخیص تفاوت‌ها، آزمون تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با استفاده از مشاهدات مورفولوژیکی انجام شد. مقادیر ویژه[1] محاسبه‌شده حاصل از آزمون تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) نشان می‌دهند که ۱۰ مؤلفه اول ۸۲/۰۳ در صد کل تنوع موجود در بین نمونه‌های موردبررسی را باعث می‌گردند.

مؤلفه اول که ۲۲/۹۲ در صد از کل تنوع را باعث می‌گردد به‌طور برجسته‌ای با صفات طول میوه، قطر میوه، ضخامت پوست در استوای میوه، عرض پهنک، طول دمبرگ و وزن میوه ارتباط دارد. مؤلفه دوم که ۱۴/۶۴ در صد کل تفاوت‌ها ایجاد می‌کند نیز با متوسط تعداد بذر در هر میوه، شکل بذر، سطح بذر و رنگ بذر ارتباط بالایی نشان می‌دهد. رنگ پوست میوه، نسبت طول به قطر میوه، رنگ گوشت و بافت گوشت با سومین مؤلفه که ۱۰/۱۱ در صد محاسبه‌شده است به‌طور معنی‌داری رابطه دارند. باقی هفت مؤلفه‌های اصلی باقی‌مانده که ۳۴/۳۷ در صد کل تغییرات را نشان می‌دهند با صفاتی مانند وضعیت گوشوارک، شکل میوه، چسبیدگی دیواره پره‌ها به یکدیگر و بافت گوشت در مؤلفه چهارم؛ حاشیه پهنک، نسبت طول به عرض پهنک، انتهای نزدیک به خامه میوه، محور میوه و رنگ گوشت در مؤلفه پنجم؛ تراکم تیغ در درخت بالغ، شکل تیغ، شکل قاعده میوه، بافت سطح پوست میوه، وضوح غدد ترشحی و چسبیدگی دیواره پره‌ها به یکدیگر در مؤلفه ششم؛ نسبت طول به عرض پهنک، شکل قاعده

1- Eigen value

میوه، وضوح غدد ترشحی و رنگ میانبر (آلبیدو) در مؤلفه هفتم؛ زاویه شاخه، تراکم تیغ در درخت بالغ، شکل تیغ و بافت سطح پوست میوه در مؤلفه هشتم؛ شکل میوه، نسبت طول به قطر میوه و طول کیسه‌های ترشحی در مؤلفه نهم؛ تراکم تیغ در درخت بالغ، حاشیه پهنک، نوک برگ، شکل سر میوه، رنگ میانبر (آلبیدو) و متوسط تعداد بذر در هر میوه در مؤلفه دهم دارای رابطه معنی‌داری هستند. بنا بر نتایج آزمون تجزیه به مؤلفه‌های اصلی از ۴۱ صفت موردبررسی ۳۱ صفت به‌صورت معنی‌داری در کل تفاوت مشاهده‌شده در بین نمونه‌های موردمطالعه نقش دارند. جدول ۵ نتایج آزمون PCA را نشان می‌دهد.

جدول ۵- نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) با توجه به ویژگی‌های مورفولوژیکی همه نمونه‌های موردبررسی از ژنوتیپ‌های لایم

Table 5- Results of principal component analysis (PCA) according to morphological properties of the studied samples of lime ghenotypes

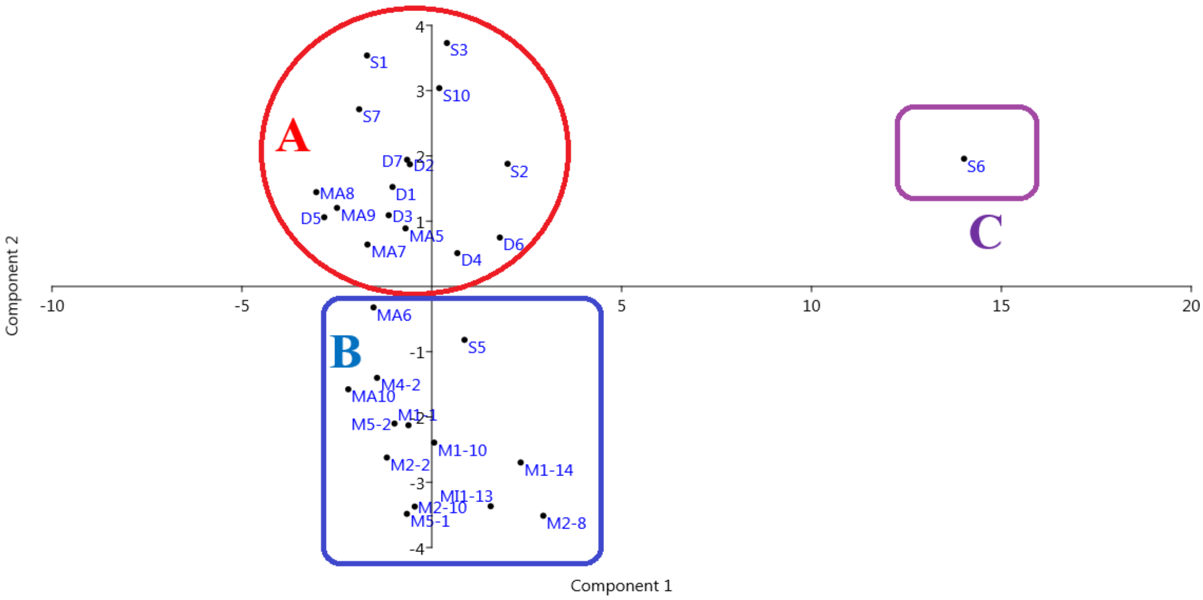
صفت Traits	مولفه Component*									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
عادت رشدی درخت Tree growth habit	-0.04	0.23	0.17	0.25	-0.02	0.08	-0.02	-0.04	0.19	-0.21
زاویه شاخه Branch angle	0.13	-0.09	0.06	-0.09	-0.15	0.02	0.25	**0.45**	0.04	-0.21
شکل درخت بالغ Tree shape	0.11	-0.11	-0.23	0.16	-0.02	0.02	-0.16	-0.11	-0.19	-0.06
رنگ نوک شاخه Shoot tip color	0.20	0.09	-0.12	-0.10	0.03	-0.02	-0.17	-0.20	0.20	0.08
تراکم تیغ در درخت بالغ Spine density on adult tree	-0.06	0.12	-0.10	0.14	-0.03	**0.33**	-0.14	**0.40**	-0.09	**0.30**
شکل تیغ Spine shape	0.04	0.19	-0.20	0.07	-0.08	**0.33**	-0.02	**0.34**	0.12	-0.08
شکل پهنک Leaf lamina shape	0.09	-0.20	0.15	0.14	-0.20	-0.03	-0.16	0.16	-0.18	-0.02
حاشیه پهنک Leaf lamina margin	0.08	-0.03	-0.13	-0.15	**0.38**	0.06	0.09	-0.14	-0.06	**0.31**
نوک برگ Leaf apex	0.09	-0.18	-0.25	0.02	-0.22	-0.05	-0.15	-0.03	0.13	**-0.36**
طول پهنک Leaf lamina length	0.26	0.10	-0.13	-0.09	0.07	-0.09	0.00	0.06	0.25	0.07
عرض پهنک Leaf lamina width	**0.30**	0.10	-0.07	-0.01	-0.04	-0.06	-0.03	0.00	0.10	0.06
نسبت طول به عرض پهنک Ratio leaf lamina length/width	-0.11	0.03	-0.13	-0.22	**0.28**	-0.01	**0.28**	0.24	0.16	0.00
طول دمبرگ Petiole length	**0.28**	0.16	-0.03	0.00	-0.07	0.01	0.11	0.02	-0.11	-0.04
وضعیت گوشوارک Petiole condition	-0.02	0.17	0.09	**0.33**	0.04	0.04	0.23	-0.02	-0.14	-0.11
پهنای گوشوارک Petiole wing width	0.26	0.16	0.03	-0.03	-0.01	-0.07	0.17	0.01	-0.12	-0.03
شکل گوشوارک Petiole wing shape	-0.08	-0.15	-0.22	0.10	-0.05	-0.16	0.05	0.10	-0.09	0.11
شکل میوه Fruit shape	0.06	-0.20	-0.03	**0.35**	0.21	0.13	-0.05	0.00	**0.28**	0.00
شکل قاعده میوه Shape of fruit base	0.07	-0.06	-0.12	-0.25	-0.10	**-0.38**	**-0.29**	0.23	0.05	-0.04
شکل سر میوه Shape of fruit apex	0.02	-0.16	0.05	-0.19	0.17	0.25	0.16	-0.05	-0.23	**-0.44**

رنگ پوست میوه Fruit skin colour	0.08	-0.19	**0.28**	-0.14	0.21	-0.15	-0.09	0.01	0.12	-0.02
ضخامت پوست در استوای میوه Width of epicarp at equatorial area	0.30	0.10	0.05	0.04	0.02	-0.04	0.05	0.05	0.07	0.03
وزن میوه Fruit weight	**0.31**	0.09	0.00	0.01	0.02	-0.03	0.07	0.00	-0.06	0.00
طول میوه Fruit length	**0.30**	0.03	-0.04	0.07	0.13	0.00	-0.03	0.05	0.05	-0.05
قطر میوه Fruit diameter	**0.31**	-0.01	0.08	0.04	0.10	-0.02	-0.02	0.06	-0.07	-0.02
نسبت طول به قطر میوه Ratio fruit length/ diameter	-0.03	0.08	**-0.34**	0.11	0.07	0.09	0.07	-0.07	**0.42**	-0.08
بافت سطح پوست میوه Fruit surface texture	0.09	-0.05	0.13	0.17	-0.09	**-0.31**	0.03	**0.33**	-0.08	0.15
چسبندگی آلبیدو به گوشت Adherence of albedo to pulp	0.05	0.24	0.17	-0.09	-0.19	0.20	-0.12	-0.13	0.00	-0.04
وضوح غدد ترشحی Nature (conspicuousness) of oil glands	0.07	-0.03	0.01	-0.02	0.01	**0.36**	**-0.44**	-0.03	-0.16	0.13
رنگ میانبر (آلبیدو) Albedo colour	-0.05	0.07	0.05	-0.04	-0.25	0.01	**0.27**	-0.15	-0.03	**0.28**
انتهای نزدیک به خامه میوه Fruit stylar end	0.13	0.14	-0.10	0.05	**-0.29**	-0.04	0.22	-0.24	0.04	-0.05
تعداد پره در هر میوه Number of segments per fruit	0.20	0.06	0.14	-0.04	0.14	0.16	-0.20	0.08	-0.03	0.01
چسبیدگی دیواره پره‌ها به یکدیگر Adherence of segment walls to each other	0.08	-0.02	0.14	**-0.34**	-0.06	**0.32**	0.20	0.10	0.02	0.07
محور میوه Fruit axis	0.00	-0.02	-0.11	0.25	**0.42**	-0.08	0.03	0.08	-0.17	-0.04
ضخامت دیواره پره‌ها Thickness of segment walls	0.21	0.02	0.09	0.09	0.02	-0.04	-0.03	-0.21	-0.17	-0.05
رنگ گوشت Pulp (flesh) colour	-0.03	0.14	**0.35**	-0.03	**0.27**	-0.12	-0.05	0.01	0.06	-0.05
بافت گوشت Pulp firmness	-0.13	0.18	**0.27**	**0.27**	0.04	-0.05	-0.04	0.07	0.16	-0.17
طول کیسه‌های ترشحی Vesicle length	0.11	-0.13	-0.23	0.19	0.06	0.04	0.23	-0.01	**-0.31**	0.03
متوسط تعداد بذر در هر میوه Average number of seeds per fruit	-0.06	**0.29**	0.04	0.11	-0.01	-0.15	0.02	0.03	0.00	**0.32**
شکل بذر Seed shape	0.11	**-0.32**	0.16	0.11	-0.07	0.10	0.10	-0.05	0.19	0.14
سطح بذر Seed surface	0.10	**-0.32**	0.16	0.11	-0.08	0.11	0.11	-0.04	0.19	0.16
رنگ بذر Seed colour	0.10	**-0.32**	0.15	0.11	-0.08	0.11	0.11	-0.04	0.18	0.16
مقادیر ویژه Eigen value	9.40	6.00	4.14	3.05	2.70	2.16	1.86	1.67	1.42	1.22
واریانس Variance (%)	22.92	14.64	10.11	7.45	6.60	5.28	4.53	4.08	3.46	2.98
در صد تجمعی Cumilative (%)	22.92	37.55	47.66	55.11	61.70	66.98	71.51	75.59	79.05	82.03

* اعداد برجسته دارای اثر بیشتری در عامل‌ها می‌باشند.

نقشه بای‌پلات (D plot) حاصل از PCA سه گـروه را نشـان داد (شکل ۳). این گروه‌بندی تقریباً شبیه به الگوی خوشه‌بندی دندروگرام حاصل از ضریب تشابه سـاده و الگـوریتم UPGMA بـود. در نقشـه بای‌پلات، مشابه تجزیه کلاستر نمونه سلطان مرکبات (S6) به‌تنهایی در فاصله زیادی از نمونه‌های لیمو قرار گرفت (گروه C). در مطالعـات خانکه‌دانی و همکاران (۱۷) چه در بررسی مورفولوژی و چه در بررسی مولکولی (ISSR) جدا شدن سلطان مرکبات دیده می‌گـردد. تمـام ده ژنوتیپ موردبررسی از منطقه میناب همـراه بـا دو ژنوتیـپ MA6 و MA10 از منوجان در کنار رقم راف لمون (S5) قرار گرفتند (گروه B) که با مراجعه به کلاستر حاصل از همین داده‌ها نیز مشاهده می‌گـردد که نمونه‌های منطقه میناب گروه خاص خود را تشکیل داده‌اند کـه در مطالعه خیاوی و همکـاران (۱۹) نیـز در تجزیـه بـای‌پـلات مشـاهده می‌گردد نمونه‌های منطقه میناب گروه خاص خود را دارند. در مطالعـه راهب و همکاران (۲۶) نیز نمونه‌های منطقه میناب گروه خاص خود را تشکیل داده‌اند. این نمونه‌ها در ماتریس تشابه دامنه‌ای مـابین ۰/۱۴۹ (دو نمونه MA6 و M2-8) و ۰/۵۸۵ (دو نمونـه M2-2 و M5-2) بـا متوسط ۰/۴۹۴ بودند که این موضوع اشاره به رابطه ژنتیکی آنها دارد. در ارتباط با گروه دیگر تشکیل‌شده (گروه A) در تجزیه بای‌پلات کـه شامل نمونه‌های باقی‌مانده بود، نکته قابل اشاره این بود که دو نمونـه لایم استاندارد موردبررسی به همراه ژنوتیپ‌های جمع‌آوری‌شده تحـت عنوان لیمو بافاصله کم از یکدیگر قرار گرفتند که این امر نشان از این است که اکثر نمونه‌های موردبررسی جـزو گـروه لایـم‌هـا مـی‌باشـند خصوصاً آنکه نمونه لمون (S2، لیمو لیسبون) بافاصـله از نمونـه‌هـای دیگر این گروه قرارگرفته است. قرارگیری رقم شاهد بالنـگ (S10) و پرتقال (S3) در این گروه به رابطه ژنتیک این ارقام به بازمی‌گردد کـه نتایج مشابهی در تجزیه بای‌پلات خیـاوی و همکـاران (۱۹) مشـاهده می‌گردد. شکل ۳ نمودار بای‌پلات حاصل از داده‌های مورفولوژیکی را نشان می‌دهد.

به‌طورکلی با توجه با کلیه نتـایج بـه‌دسـت‌آمـده و مطالعـه مسـیر فیلوژنتیکی اکسیشن‌هـای بـومی ایـران و هفـت رقـم، نتیجـه‌گیـری می‌گردد که اکسیشن‌های بومی ایران دارای بالاترین تشـابه بـا رقـم مکزیکن لایم و کمترین تشابه با رقم سـلطان مرکبـات مـی‌باشـند، و همچنین از مقایسه رابطه کل نمونه‌های بررسی‌شده می‌توان بیان کرد که جهت انجام برنامه‌های اصلاحی خصوصاً در جهت به دست آوردن لایم‌هایی که نسبت به بیماری جاروک لیموترش مقاوم باشند می‌توان از تلاقی مابین لمون‌ها و سایر درختان مجموعه مرکبات استفاده نمود.



شکل ۳- نمودار بای پلات بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیکی ۳۰ نمونه مرکبات و رقم انتخاب‌شده از مناطق مختلف ایران

(کد نمونه‌ها بر اساس جدول ۱ است)

Figure 3- Generated D-plot based morphological characteristics of 30 of citrus samples and cultivars collected from different region of Iran

(Sample code are based on Table 1)

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد که با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی می‌توان اقدام به بررسی تنوع و طبقه‌بندی ژنوتیپ‌های لیمو (لایم) نمود. دامنه تشابه بین نمونه‌های تقریباً وسیع و متوسط تشابه ۰/۳۸۸ است. نتایج به‌دست‌آمده در تجزیه کلاستر و تجزیه بای‌پلات در آنالیز مورفولوژی تشابه بالایی دارند و نمونه‌ها را در تجزیه کلاستر در ۴ گروه با اختلافات درون‌گروهی حداقل و بین گروهی حداکثر در سطح تشابه ۰/۳۲ قرار گرفتند. امروزه یکی از مشکلات موجود در باغات لیمو در جنوب ایران بیماری جاروک است که یکی از راه‌های مبارزه با این مشکل استفاده از ارقام متحمل است. یکی از راه‌های دست‌یابی به این ارقام متحمل انجام دورگ‌گیری مابین اکسیشن‌های تحت کشت که سازگاری با منطقه دارند با گیاهان متحمل به این مشکل است. همچنین در انجام تلاقی بایستی موضوع هدم ایجاد ضعف ژنی را مدنظر قرارداد که راه جلوگیری از این موضوع انجام تلاقی مابین نمونه‌های بافاصله ژنتیکی است لذا از نتایج این تحقیق می‌توان به این موضوع رسید که ازآنجایی‌که اکثر نمونه‌های موردبررسی با نمونه استاندارد مکزیکن لایم رابطه نزدیکی دارند لذا مناسب از آنها برای تلاقی با یکدیگر استفاده ننمود بلکه اقدام به تلاقی با لمون‌ها یا مرکبات دیگر نمود.

منابع

1- Abedinpour H., Ranjbar Gh.A., Babaein Jelodar N.A., and Golein B. 2014. Evaluation of genetic diversity in citrus genotypes by IRAP molecular marker. International Journal of Farming and Allied Sciences 3: 230-234.

2- Al-Anbari A., Kanawapee N., Al-Kazragi T.A., Al-Jewari H., Al.Mashhadani A., Barusrux S., Pornpongrungrueng P., and Theerakulpisut P. 2014. Genetic diversity of *citrus* (Rutaceae) in Iraq based on random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers, African Journal of Agricultural Research 9(11): 1112-1019.

3- Barrectt H.C., and Rhodes A.M. 1976. A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultivated Citrus and its close relatives. Systematic Botany 1: 105–136.

4- Campos E.T., Espinosa M.A.G., Warburton M.L., Varela A.S., and Monter A.V. 2005. Characterization of Mandarin (*Citrus* spp.) using morphological and AFLP markers. Interciencia 30(11): 687-693.

5- Cooper W.C., Reece P.C., and Furr J.R. 1962. Citrus breeding in Florida-past, present and future. Florida State Horticultural Society 75: 5-13.

6- Davies F.S., and Albrigo L.G. 1994. Taxonomy cultivars and breedin, In: Davis, F.S., and Albrigo, L.G. (Eds) Citrus, Wallingford, CAB Internationa.

7- Dorji K., and Yapwattanaphun Ch. 2011. Morphological identification of mandarin (*Citrus reticulate* Blanco) in Bhutan. Kasetsart Journal (Natural Science) 45: 793–802.

8- Fatahi R., Ebadi A., Vezvaei A., Zamani Z., and Ghanadha M.R. 2004. Relationship among quantitative and qualitative characters in 90 grapevine (*Vitis vinifera*) cultivars. P.275-282. In XXVI International Horticultural Congress: Viticulture-Living with Limitations 640, 31 August 2004. International Society for Horticultural Science, Toronto, Canada.

9- Ferguson A.R. 2006. The need for characterisation and evaluation of germplasm: kiwifruit as an example. Euphytica 154: 371–382

10- Fotohi ghazvini R., and Fatahi Moghadam J. 2010. Citrus cultivation in Iran, Guilan University, Rast. (In Persian)

11- Gulsen O., and Roose M.L. 2001a. Lemons: diversity and relationships with selected *Citrus* genotypes as measured with nuclear genome markers. American Society for Horticultural Science 126(3): 309-317.

12- Gulsen O., and Roose M.L. 2001b, Chloroplast and Nuclear Genome Analysis of the Parentage of Lemons, American Society for Horticultural Science 126(2): 210–215.

13- IPGRI. 2000. Descriptores para los citricos Citrus spp. Instituto Nacional de Recursos Fitogeneticos, Roma, 75

14- Jahangirzadeh Khiavi Sh., Hamidoghli Y., Golein B., and Sabouri A. 2016. Study of genetic diversity of some Iranian acid lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) genotypes using AFLP marker, Journal of Plant Production Research 23(3): 81-96. (In Persian with English abstract)

15- Johnson R.A., and Wichern D.W. 2002. Applied multivariate statistical analysis. Upper Saddle River, New Jersey Prentice hall.

16- Karp A., Kresovich S., Bhat K.V., Ayad W.G., and Hodgkin T. 1997. Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies. IPGRI Technical Bulletin No. 2. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

17- Khankahdani H.H., Rastegar S., Golein B., Golmohammadi M., and Jahromi A.A. 2017. Genetic diversity in Persian lime (*Citrus latifolia* Tanaka) accessions using morphological and molecular markers. Poljoprivreda i Sumarstvo 63(3): 221-231.

18- Khiavi S.J., Hamidoghli Y., Golein B., and Sabouri A. 2015. Evaluation of genetic diversity in acid lime ('Citrus

aurantifolia'swingle) genotypes using AFLP markers. Australian Journal of Crop Science 9(10): 996-1002.

19- Khiavi S.J., Hamidoghli Y., Golein B., and Sabouri A. 2016. Assessment of lime genetic diversity in three regions of Iran using morphological and ISSR markers. Agricultural Communications 4(3): 18-29.

20- Koehler-Santos P., Dornelles A.L.C., and Freitas L.B. 2003. Characterization of mandarin citrus germplasm from southern Brazil by morphological and molecular analyze. Pesquisa Agropecuária Brasileira 38: 797-806.

21- Kumar S., Jena S.N., and Nair N.K. 2010. ISSR polymorphism in Indian wild orange (*Citrus indica* Tanaka, Rutaceae) and related wild species in North-east India. Scientia Horticulturae 123: 350–359.

22- Malik S.K., Rohini M.R., Kumar S., Choudhary R., Pal D., and Chaudhury R. 2012. Assessment of Genetic Diversity in Sweet Orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] Cultivars of India Using Morphological and RAPD Markers. Agricultural Research 1(4): 317–324.

23- Naghavi M.R., Ghareyazie B., and Hosseini Salekdeh Gh. 1388. Molecular Markers. University of Tehran press, Tehran.

24- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences 70(12): 3321-3323.

25- Pal D., Malik S.K., Kumar S., Choudhury R., Sharma K.C., and Chaudhury R. 2013. Genetic Variability and Relationship Studies of Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) Using Morphological and Molecular Markers. Agricultural Research 2(3): 236–245

26- Raheb S., Ghasemnezhad M., Golein B., Golmohammadi M., and Sabouri A. 2018, Variability analysis of lime (*Citrus* sp.) genotypes using morphological markers in the south of Iran. Journal of Research in Ecology 6(1): 1400-1411

27- Rajapakse S., Belthoff,L.E., He G., Estager A.E., Scorza R., Verde I., Ballard R.E., Baird W.V., Callahan A., Monet R., and Abbott A.G. 1995. Genetic linkage mapping in peach using morphological, RFLP and RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics 90(3-4): 503-510.

28- Roose M.L., and Close T.J. 2008. Genomics of Citrus, a Major Fruit Crop of Tropical and Subtropical Regions. p. 187-201. In: Moore P.H., Ming R. (eds) Genomics of Tropical Crop Plants. Plant Genetics and Genomics: Crops and Models, vol 1. Springer, New York, NY.

29- Şahin-Cevik M., and Moore G.A. 2012. Quantitative trait loci analysis of morphological traits in Citrus. Plant Biotechnology Reports 6: 47–57.

30- Salimpour A., Ebadi A., Moghaddam M.F., and Bihamta M. 2012. An evaluation of genetic diversity in some almond genotypes using morphological traits. Iranian Journal of Horticultural Science 42(4): 319-327. (In Persian with English abstract)

31- Shahsavar A.R., Izadpanah K., Tafazoli E., and Seyed Tabatabaei B.E. 2007, Characterization citrus including unknown variants by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers, Scientia Horticulturae 112: 310-314.

32- Shahsavar A., Izadpanah K., Tafazoli E., and Sayed Tabatabaei B.E. 2005. Evaluation of genetic variability of limes and lemons in the Fars province by morphological trats and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 5(4): 177-188. (In Persian with English abstract)

33- Smith J.S.C., and Smith O.S. 1989. The description and assessment of distances between inbred lines of maze: the utility of morphological, biochemical and genetic descriptors and a scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. Maydica 46: 190-193.

34- Soost R.K., and Roose M.L. 1996. Citrus. p. X. In Okie W.R., and Weinberger J.H. (ed.) Fruit Breeding, Tree and Tropical Fruit. John Wiley and Sons.

35- Zandkarimi H., Talaie A., Fatahi R., and da Silva J.A.T. 2011. Evaluation of Some Lime and Lemon Accessions by using Morphological Characterization in Hormozgan Province (Iran). Fresh Produce 5(1): 69-76.

Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.4, Winter 2021, P. 645-662
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۹، ص. ۶۶۲-۶۴۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Morphological Markers as a Tool for Investigating Genetic Diversity of Some Lime Genotypes

Sh. Jahangirzadeh Khiavi[1]*- B. Golein[2]
Received: 15-04-2020
Accepted: 03-10-2020

Introduction: Citrus fruits are the most common semi-tropical crops in the world. Acid lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) is an important commercial fruit crop, cultivated in the south of Iran. High variation of acid lime fruits is observed in the south of Iran due to crossing within the other citrus species and frequent bud mutation. Recently, Witch's Broom Disease of Lime (WBDL) become a major limiting factor for lime production in the South of Iran as well as the main threating factor for lime industry in Iran. Having knowledge about the genetic of this plant is helpful for designing citrus breeding program. Therefore, in this research morphological traits were used to understand the genetic relationships and diversity of this gene pool.

Materials and Methods: Thirty citrus samples, including 23 undefined local and native genotypes and seven known cultivars were collected from four regions in Iran (Darab (54.53E, 28.75N), Manojan (57.49E, 27.40N), Minab (57.07E, 27.14N) and Ramsar (50.64E, 36.92N)). Forty-one (32 qualitative and nine quantitative) traits were investigated using leaves, fruits and seeds. The selection of morphological traits were made based on IPGRI descriptors. The similarity was calculated by simple matching coefficient and dendrogram was designed based on UPGMA algorithms. Principal components analysis was performed.

Results and Discussion: Genetic diversity of 23 lime genotypes and seven commercial cultivars were investigated by using 41 morphological characters. Based on gained data similarity matrix (Jaccard, Dice and Simple maching) were calculated and dendrogram based on UPGMA algorithms were designed. To finding better similarity coefficient, cophenetic test was done, it showed that if used SM coefficient 79 percent of data of similarity matrix was shown in designed cluster based on UPGMA algorithm. According to results, range of similarity was between 0.141 until 0.683. Maximum similarity was observed between two lime cultivars (Persian lime and Mexican lime). Average of similarity was calculated 0.39. In cluster analyses of studied samples at 32 level of similarity samples were divided into four main groups. First group has only one member and it was pomelo, as it is one of the ancestors of citrus fruits, this is quite acceptable. The notable point for second main group that it included all examined samples of Minab. As in this region most of cultivated citrus are lime, there is little gene mixing with other citrus. The third group consist of two cultivars sweet orange and Citon that intended in present investigation. Fourth group which was the biggest created groups that included more than half the samples (56%) was more complex because it consists of samples of limes and lemons that intended in investigation as control and samples of Darab and Manojan. This main group at level of 0.38 divided into three sub-groups, at first, Lisbon lemon was separated from other samples and next Manojan samples created their special sub-group and finally third sub-group which consist of 11 members (samples of Darab, MA6 from Manojan and three commercial cultivars, Persian lime, Mexican lime and Rough lemon). Principle Component Analysis (PCA) showed the first five principal components, which contributed 59.01% of the total variability of investigated samples. Maximum variability was contributed by the first component (22.77%) followed by the second component (12.54%), and the third component (9.85%). A two-dimensional plot (2D plot) generated from PCA showed three groups. This grouping was roughly in line with the distribution of the samples in the resulting cluster analysis based on SM coefficient and UPGMA algorithm. Principle Component Analysis using 41 descriptors showed that 26 of 41 descriptors were informative and contributes significantly to the variation present in the germplasm.

Conclusion: This study described and estimated the extent of phenotypic variation present among the samples of limes from Iran germplasm. Morphological analyses among 23 genotypes and seven commercial cultivars from four regions of Iran were successfully used to calculate genetic diversity and genetic relationships.

1- Assistant Professor, Tea Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Lahijan, Iran
(*- Corresponding Author Email: shjahangirzadeh@gmail.com)
2- Associate Professor, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran
DOI: 10.22067/jhorts4.v34i4.85292

According to our results, it was confirmed that morphological analyses in limes and other *Citrus* species were exploit to determine genetic diversity and relationship, successfully. Characterization by using morphological descriptors based on 41 characters, revealed significant diversity in traits of leaf, fruit and seed. This investigation display the use of morphological characters to study genetic diversity of Iranian lime genotypes from four different regions that their relationships were somewhat clarified. The results of this study also opened a door to tackle the long standing problem of citrus classification and identification in Iran. But, we suggest that this type of study needs to be continued due to Iran has a very large and numerous citrus germplasm. In south and central regions of Iran, it is being propagated by seed which gives researchers a chance to find new genotypes that need to be classified, investigated and introduced as a new cultivar.

Keywords: Citrus, Descriptor, Phylogenic relationship, Morphological character